

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95195195.5

[45] 授权公告日 2002 年 4 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1082800C

[22] 申请日 1995.9.14 [24] 颁证日 2002.4.17

[21] 申请号 95195195.5

[30] 优先权

[32] 1994.9.22 [33] SE [31] 9403191-1

[86] 国际申请 PCT/SE95/01041 1995.9.14

[87] 国际公布 WO96/09029 英 1996.3.28

[85] 进入国家阶段日期 1997.3.21

[73] 专利权人 比奥拉公司

地址 瑞典马尔默

[72] 发明人 S·林德斯科 L·布罗姆勒夫

[56] 参考文献

US4850872A 1989.6.25 A61K5/00

US4850872A 1989.6.25 A61K5/00

口腔医学 1994;14(2):60-61 1994.6.1 孙卫斌 袁留平, 乙二胺四乙酸根面处理的实验研究

审查员 刘菊芳

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 魏金玺 谭明胜

权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 表面侵蚀

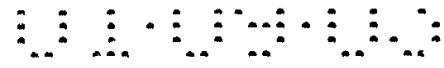
[57] 摘要

一种用于生物学、矿化表面的清理,特别是牙根清理的组合物,和一种用于牙根清理的方法,该组合物选择性地除去暴露的牙根表面的一些部份,以加强牙周外科手术处牙齿的附着,该组合物含有作为活性成分与水性基质结合在一起的有效量的乙二胺四己酸(EDTA)。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 乙二胺四乙酸在生产一种用于生物学、矿化表面的清理的组合物中的应用, 该组合物所含乙二胺四乙酸的浓度不低于乙二胺四乙酸饱和浓度的 90% 重量, 是通过选择性地除去暴露表面的一些部份来实现清理的。
- 5
2. 权利要求 1 的应用, 其中含有与水性基质结合在一起的乙二胺四乙酸。
3. 权利要求 2 的应用, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 22% 至 27% 重量。
- 10
4. 权利要求 3 的应用, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 25% 重量。
5. 权利要求 3 的应用, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 24% 重量。
6. 前述权利要求中任一项的应用, 其中所述的生物学、矿化表面是一种通过选择性地除去暴露的牙根牙本质表面的一些部份, 加强牙周外科手术处牙齿的附着的牙根。
- 15
7. 一种含有乙二胺四乙酸的组合物, 其中包含与水性基质结合在一起的乙二胺四乙酸, 其浓度不低于乙二胺四乙酸饱和浓度的 90% 重量。
8. 权利要求 7 的组合物, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 22% 至 27% 重量。
- 20
9. 权利要求 8 的组合物, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 25% 重量。
10. 权利要求 8 的组合物, 其中乙二胺四乙酸的浓度为 24% 重量。
11. 权利要求 7 的组合物, 其特征在于该组合物还含有 pH 调节剂, 其量以使组合物的 pH 为 6 至 8 为准。
12. 权利要求 10 的组合物, 其特征在于该组合物还含有 pH 调节剂, 其量以使组合物的 pH 为 6 至 8 为准。
- 25
13. 权利要求 11 的组合物, 其特征在于所述的 pH 为 6.5 至 7.5。
14. 权利要求 11 的组合物, 其特征在于所述的 pH 调节剂选自碱性化合物和缓冲剂。
15. 权利要求 14 的组合物, 其特征在于所述的试剂是选自氨、碱金属和碱土金属氢氧化物的碱性化合物。
- 30
16. 权利要求 7-15 中任一项的组合物, 该组合物呈水溶液状态。
17. 权利要求 16 的组合物, 其特征在于该组合物含有选自多糖类、



蛋白质类和糖蛋白类的增粘剂。

18.权利要求 17 的组合物，其特征在于所述的增粘剂选自纤维素类及其衍生物、淀粉类及其衍生物、植物胶类、荚膜微生物多糖类和藻多糖类。

5 19.权利要求 18 的组合物，其特征在于所述的增粘剂是由羧甲基纤维素或其盐构成的。

20.一种用于牙根清理的水性组合物，该组合物选择性地除去暴露的牙根表面，以加强牙周外科手术处牙齿的附着，按所述组合物的含水量计，该组合物含有：

10 乙二胺四乙酸，其量为 22 - 27% 重量；
氢氧化钠，用作 pH 调节剂，其量以使 pH 为 6.5 至 7.5 为准；和
增粘剂，由羧甲基纤维素或其盐构成，其量为 1% 重量至 5% 重量。

21.权利要求 20 的组合物，其中：

15 乙二胺四乙酸的含量为 25% 重量；
组合物的 pH 接近中性 pH7；和
增粘剂是羧甲基纤维素钠，其量为 3 - 5% 重量。

说 明 书

表面侵蚀

5 本发明涉及一种生物学的、矿化表面的清理，特别是牙根清理的方法，该方法选择性地除去暴露的牙根表面的一些部份，这种清理方法可作为加强牙周外科手术处牙齿附着的一种方案。

10 牙齿通过牙根连接到牙槽骨上。在牙根的表面有一薄层矿化的牙骨质。牙骨质层固定延伸到邻接牙槽骨的胶原纤维。因此在牙根和牙槽骨表面之间处，主要是胶原纤维和结缔组织细胞(纤维细胞)。这种称之为牙周膜或韧带的软组织是一种高度专门化的结缔组织。它有生成牙槽骨以及牙骨质的能力，且如果条件合适，可以在因牙周病失去附着组织的牙根区生成新的附着组织。

15 牙周病仅次于龋齿，是最常见的口腔疾病。它是一种进行性疾病，能导致部分或整个牙齿的坏死，在工业化国家中，患有严重牙周病的病员约占人口的10%。但是，大多数成年人都有一个或多个牙齿受到过这种疾病的侵袭。

20 这种疾病最常见的形式被称作边缘性牙周炎。它是由细菌沉积物在牙龈边缘的牙齿表面上的积累引起的。这些细菌沉积物来源于宿主原有的口腔微生物区系并诱发牙龈炎性反应，从而造成牙齿支持组织(牙周膜和牙槽骨)的破坏。牙齿支持组织的破坏使牙根和牙龈组织(牙龈)之间的间隙(牙周袋)加深。这种疾病随着细菌根尖向移动到牙周袋而发展，由于软组织发炎的结果，牙周袋越来越深。除非作适当的治疗，否则，如果过多的牙齿支持组织被破坏，牙齿就会松动以致最终脱落。

25 边缘性牙周炎常规治疗的一般目的是从牙根表面清除细菌沉积物和牙石(矿化的细菌沉积物)，以便消除产生牙龈炎的病因。常规治疗可分为非外科手术法和外科手术法。

30 治疗通常以刮(用刮牙术和牙根整平法)牙齿表面开始，以便清除可见的细菌沉积物和牙石以及隐藏在牙龈边缘下面的沉积物。这能减轻发炎引起的牙龈肿胀，且往往还能减少牙周袋的深度。然而在牙龈边缘之下进行彻底刮牙并将牙根整平是很难的，且在较深的牙周袋中，难以触及的感染部位会成为再感染的贮主。这通常是具有多根分叉、感染已扩展到牙根中间区域的复杂情况的牙病例。因此，可能不得不使用可以增加

可及性和可视性的外科手术方法，以便完全消除软的和硬的细菌沉积物。

5 在牙周外科手术中，将牙龈与牙根和牙槽骨分开，使感染了牙周炎的牙根暴露出来。然后采用刮牙术和牙根整平法除去牙根上的细菌沉积物和牙石。这还包括除去表面粗糙组织和被细菌毒素污染的牙根牙骨质。在该区域洗净后，将龈片复位并缝合。在随后的愈合期间必须保持高度的口腔卫生，以避免疾病的复发。

这种常规治疗方法是保守疗法，只是尽量保护剩下的牙齿支持组织。因此，采用常规治疗不能使已经失去的牙齿支持组织得到再生。

10 牙周的愈合主要与牙周病的治疗有关。这个过程在很大程度上取决于牙齿表面硬/软组织接触面上所发生的组织反应。

在牙周治疗后，对边缘有感染的牙周伤口的愈合进行的长期研究表明，在伤口区域，细胞的移植生长是由于牙槽骨、口腔上皮和粘膜结缔组织以及牙周结缔组织竞争的结果。一般在牙周外科手术后，长的接合15 上皮会复盖所暴露的软组织皮片的结缔组织，即根尖向移至或接近其外科手术前的水平。在外科手术后约一周，增生的上皮细胞通常会达到牙周袋在外科手术前的水平，因而妨碍结缔组织附着到牙根的表面上。还已确定，在非外科手术治疗方法，例如牙根整平法治疗之后，边缘愈合有利于牙周袋上皮的根尖向增生。而且，边缘性牙周伤口的愈合一般不20 包括修复性牙骨质或牙槽骨的生成。在边缘性牙周伤口牙根表面的最尖处 0.1 - 0.2mm 内有时发现例外情况，在上皮达到伤口的根尖延伸部分之前结缔组织细胞能向该处移植生长。在有利的解剖条件下，例如纵深断裂(destructions)，在临床上已有“牙槽骨填充”(“Bone - fill”)的记载。然而许多多根牙分叉的复杂情况用常规的牙周外科手术往往无助于25 牙周顺利自愈。

总之，牙齿支持组织(牙骨质、牙周膜和牙槽骨)在边缘性牙周炎常规治疗以后通常不会再生。而是使暴露的牙根表面复盖上一层上皮细胞，这些细胞无济于牙根的功能性附着。

30 在七十至八十年代的研究表明，在有利的条件下可以促进牙周韧带和牙骨质细胞修复以前患病的牙根表面。在牙周外科手术时通过在软组织皮片下插入半孔膜(“受引导的组织再生”)可阻止上皮细胞沿牙根表面迁移，因而有利于牙周纤维细胞向牙根表面移植生长。这将为牙周韧带

和牙槽骨细胞在牙根表面上选择性修复提供条件。

5 在牙周外科手术时进行浸蚀有三个目的：除去细菌毒素、除去菌斑层和暴露牙根表面上的胶原纤维及通过止血作用增加可见度。其中前两项已在玻璃试管中进行了评价，大部分采用柠檬酸，在某些情况下也采用正磷酸，这两种酸均在 pH 约为 1 下进行浸蚀。(洛温古思，RA 布利登 TM，牙周的再生：牙根表面的去矿化作用。牙周病学 2000 1993；1：54)。

10 进行刮牙和牙根整平，以除去细菌沉积物、牙石和牙根表面(牙骨质和牙本质)上的表面层和隐藏细菌毒素的结构和组织。这些毒素不只限于细菌沉积物，而且还发现这些毒素已吸附在患牙周病的牙根表面上。业以证明，这些物质能抑制细胞在玻璃试管内的附着，这种附着是对愈合所必须的功能。因此，刮牙和牙根整平的目的是为边缘愈合提供生物学上可接受的表面。然而在牙根表面做器械处理之后，可能仍然有被污染的牙骨质区以及复盖器械处理过的表面的菌斑层。曾报导过用其它的牙根表面处理方法，例如浸蚀法除去菌斑层。

15 已经报导，应用浸蚀剂除去菌斑以及由刮牙和牙根整平所产生的碎屑。虽然报导过一些与试剂使用方式有关的矛盾的结果，但这种方法也对矿化的牙根表面起作用。尽管也有一些报告指出，用柠檬酸浸泡的棉球摩擦牙根表面，与简单地使用一滴酸或将浸透了酸的棉球放在牙根表面上而不摩擦相比没有任何差别，但它似乎能暴露出更多的管间原纤维，并在更大的程度上加宽了牙质小管。在这一点上，已经证明延长浸蚀剂的浸蚀时间，会使渗透的深度增加。

20 有些研究项目研究了在牙周外科手术当中，用柠檬酸或正磷酸浸蚀暴露的牙根表面之后牙周的愈合，但却没有几个研究项目评价过在应用酸以后周围软组织的反应。尽管 pH 低(约为 1)，但在用酸部位的周围，似乎没有任何微小区域的软组织受到损伤。尽管这些结果看上去很不相同，但已报导，它们对牙周的愈合有较大的影响。

25 从开始就一直有报导，用柠檬酸和正磷酸浸蚀(pH1)牙根的表面可产生新的附着或重新附着。看来浸蚀法似乎是受以前称作“骨骼形成蛋白”的脱矿化牙本质的许多要素中骨骼诱发能力的启发。后来对这些论断一直持有争议，而对人体内的大多数研究表明，结缔组织的愈合以及伴随的某些修复性牙骨质的生成不会形成生长的上皮接合。还有理由认为，在

外科手术时，对牙周伤口应用柠檬酸或正磷酸通过止血作用会增加可见度以及便于除去表面的粗糙组织。

虽然与牙根清理有关的现有技术大多采用柠檬酸和在某些情况下也采用正磷酸，但本发明的目的是为这种清理提供一个全新的概念，利用使清理得到极大改善的正确的浸蚀方法，来增强牙齿随后的附着。由于本发明涉及牙根的浸蚀，值得注意的是所谓“浸蚀”是指利用浸蚀剂例如酸溶液或其它试剂的作用，选择性地除去附在固体表面上的(一些)部份或(一些)组分。因此，浸蚀法并不涉及腐蚀被处理表面以除去整个表面层。因此在牙周外科手术处的牙根表面上所进行的浸蚀旨在选择性地除去细菌毒素和羟磷灰石，留下暴露的胶原层。

因此，本发明的主要目的是为清理生物学的、矿化表面提供一种方法，特别是通过牙根清理的浸蚀法，在牙根上留下暴露的胶原层。

本发明的另一个目的是提供一种用于这种方法的组合物。

本发明还有另一个目的，是提供牙根清理技术，从而显著改善牙周外科手术处牙齿的附着。

本发明的再一个目的是提供既不依赖于低 pH 也不存在任何毒物学问题的清理技术。

本发明还有另一个目的，是提供对周围牙周组织没有坏死作用的清理技术，这是因为该清理方法可在中性或接近中性的 pH 下进行。

对于这些和从下文的详细叙述将会清楚的其它目的，本发明提供一种生物学的、矿化表面的清理方法，和根据本发明的这种方法包括使用含有有效量的乙二胺四乙酸(EDTA)的组合物浸蚀处理所述的表面。本发明特别适用于牙根的清理，本发明选择性地除去暴露的牙根表面的一些部份，从而会显著地增强牙齿随后的附着。

根据本发明优选的实施方案，该组合物含有在水性介质中与水性基质结合的所述的酸。

本发明还提供一种用于牙根清理的组合物，所述的牙根清理由浸蚀构成，以选择性地除去暴露的牙根表面的一些部份。所述的组合物含有作为活性成分与水性基质或载体结合在一起的有效量的 EDTA。

上述组合物包含与水性基质结合在一起的乙二胺四乙酸，其浓度不低于乙二胺四乙酸饱和浓度的 90%重量。而乙二胺四乙酸的浓度为 24%重量。

为了便于将氨基多元羧酸加入组合物的基质中，优选含有 pH 调节剂，其量以使组合物水相的 pH 为约 6 至约 8 为准。特别优选的 pH 为约 6.5 至

约 7.5, 即接近中性, pH 约为 7.

所述的 pH 调节剂可以是能与预定使用的组合物配伍的任一碱性化合物或碱性物质, 且这种试剂也可以由适宜的缓冲剂构成。在碱性化合物中, 可以举出氨以及碱金属和碱土金属的氢氧化物。特别优选的碱性化合物是氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化钙。

上述的组合物是水性的, 并可由水溶液构成。为了便于该组合物的应用, 优选其呈粘性水溶液的形式, 用增粘剂来增加粘度。这种试剂可由多糖构成, 可选自纤维素及其衍生物、淀粉及其衍生物、植物胶、荚膜微生物多糖类和藻多糖类。

在优选的多糖类中, 可举出纤维素及其衍生物, 例如乙基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素及其盐类以及淀粉类及淀粉衍生物, 例如羟乙基淀粉。特别优选的增粘剂是羧甲基纤维素钠。

在荚膜微生物多糖类中, 可以有黄原胶、curdian、pullolan 和葡聚糖, 在藻多糖类中, 可以举出琼脂、角叉菜胶和藻朊酸。

根据本发明在组合物中所用多糖的浓度可在很宽的范围内变化, 但按组合物的重量计, 多糖的实用上限为约 25% (重量)。然而多糖可以采用很低的百分浓度, 且其浓度最高为 10% (重量), 例如约 1 至约 5% (重量), 实际上是可能的。

代替多糖作增粘剂的另一种方案, 可以采用选自蛋白质类和糖蛋白类的试剂, 例如明胶、变性结构的蛋白和蛋白多糖。

优选组合物以水作主要成分, 其浸蚀成分 EDTA 的含量可以接近或达到饱和浓度, 例如按组合物的含水量计为约 27% (重量)。在接近中性 pH 时, 该酸 - EDTA 的饱和浓度按组合物的含水量计为约 22% 至 27% (重量), 例如为约 25%。

“接近饱和”一词在本文的意思是浓度不低于饱和浓度的约 80%, 且更具体而言不低于约 90%。

为了便于将根据本发明的组合物应用于待清理的牙根表面, 优选该组合物具有比较高的粘度, 且为此种用途的组合物可以制成胶体或半流动形态的制剂。这种状态或形态可以通过采用很少量适宜的多糖得到, 例如按组合物的含水量计, 其含量最高为约 5% (重量), 优选为约 2% 至约 5% (重量)。

乙二胺四乙酸在生产一种用于生物学、矿化表面的清理的组合物中的应用, 该组合物所含乙二胺四乙酸的浓度不低于乙二胺四乙酸饱和浓度的 90% 重量, 是通过选择性地除去暴露表面的一些部份来实现清理

的。

上述的应用，其中含有与水性基质结合在一起的乙二胺四乙酸。

上述的应用，其中乙二胺四乙酸的浓度为 22% 至 27% 重量。

上述的应用，其中乙二胺四乙酸的浓度为 25% 重量。

5 上述的应用，其中乙二胺四乙酸的浓度为 24% 重量。

EDTA 是二价阳离子例如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Pb^{2+} 的螯合剂。它广泛地应用于解毒输液和用作体内的抗凝血剂。在体外，它也有许多用途，例如使细胞与固体基质分离、在切片和染色之前使组织试样脱钙和作为生物学分析中的洗涤剂。

10 当采用普通的浸蚀剂在 pH 1 下浸蚀时，不只是溶解暴露的牙本质表面的矿物组分，而且还溶解胶原基质。在酸性 pH 下，胶原能被酸类例如低浓度的柠檬酸溶解。可以证明，EDTA 也会溶解胶原分子或外层结构中的一些成分。但在对牙根表面浸蚀预定的短时间内，这种作用是可以忽略的。因此，EDTA 与常规的浸蚀剂相比，它能选择性地除去羟磷灰石而不除去牙本质的胶原基质。

15 作为一个优选的实施方案，本发明属于适用于牙根清理的水性组合物，该组合物择性地除去暴露的牙根表面，以便增强牙周外科手术处牙齿的附着，按所述组合物的含水量计，该组合物含有：

EDTA，其量为约 22 - 27% (重量)；

20 氢氧化钠，用作 pH 调节剂，其量以使 pH 为约 6.5 至约 7.5 为准；
和

增粘剂，羧甲基纤维素(CMC)或其盐，其量为约 1% 至约 5% (重量)。
在为上述用途特别优选的组合物中：

EDTA 的含量为约 25% (重量)；

25 组合物的 pH 接近中性 pH7； 和

增粘剂是羧甲基纤维素钠，其量为约 3 - 5% (重量)。

下面参照一些具体实施例，进一步说明本发明，但是除在所附的权利要求中规定的之外，不得认为本发明的范围受这些实施例的限制。在这些实施例中，除非另有说明，百分率均指重量百分率。对本发明的举
30 例说明是参照附图进行的，其中：

图 1A 是暴露于柠檬酸或正磷酸后牙本质表面的扫描电子显微示踪图；

图 1B 是根据本发明浸蚀的牙本质表面相应的扫描电子显微示踪图； 和

35 图 2 是比较使用不同浸蚀剂时，牙本质表面上暴露的胶原的染色图。

实施例 1

扫描式电子显微镜(SEM)的研究

将拔出的暴露了牙本质的牙齿在柠檬酸(饱和的, pH 1), 正磷酸(37 % , pH 1)或 EDTA(24 % , pH7, NaOH)水溶液中浸泡不同的时间, 最长至 10min。然后制备 SEM 检验试样。

所有这些溶液在短时间内(不到 1min)都除去了菌斑和碎屑。常规的酸浸蚀(柠檬酸或正磷酸)产生了基本上平滑的牙本质表面, 只是偶而在牙质小管之间的区域有非晶质的沉积物, 但没有任何可见的纤维。一些牙质小管清晰可见且看来似乎被加宽。EDTA 浸蚀产生完全不同的结构, 在牙质小管内的牙本质始终显示出纤维网络, 单根纤维清晰可见, 其尺寸与胶原纤维不相上下。

用一些短线标记在浸蚀过程中暴露的纤维, 圆形结构表示开口的牙质小管之间。图 1A 示出在使用正磷酸(pH1, 37 %)4min 后的表面示踪图。在使用柠檬酸(pH1, 饱和的)后, 看到相似的结果。图 1B 示出在使用 EDTA(pH7, 24 %)4min 后的表面图。值得注意的是, 与使用 EDTA 的结果相比, 在使用正磷酸后几乎完全没有纤维。使用 EDTA 后, 暴露出了表面上的纤维, 而其它两种酸中的任一种, 在低 pH 下浸蚀的情况都不是这样。

实施例 2

20 胶原染色法的研究

将拔出的暴露了牙本质的牙齿在柠檬酸(饱和的, pH1), 正磷酸(37 % , pH1)或 EDTA(24 % , pH7)水溶液中浸蚀不同的时间, 最长至 10min。然后将试样用胶原染色法染色, 并用光密度法测定染色的强度。

与用常规的酸浸蚀法(柠檬酸或正磷酸)处理的那些表面相比, 用 EDTA 处理的所有表面对胶原的染色强度明显地增强。常规浸蚀几乎不能完全显示牙本质表面的胶原。

在图 2 中所示的图象是使用正磷酸(pH1, 37 %)、柠檬酸(pH1, 饱和的)和 EDTA(pH7, 24 %)浸蚀 4min 后, 对染色强度的光密度测定记录。这些记录是相对浸蚀前机械暴露的未浸蚀牙本质表面(基线)和邻近的牙周膜(100 %)测定的。值得注意的是, 在使用 EDTA 后, 对胶原的染色作用很强, 与此相比, 在使用其它两种酸中的任一种后, 染色作用几乎都可以忽略。

这两种研究的结果表明, 在 EDTA 浸蚀后, 胶原基质不受损伤, 而用常规浸蚀剂例如柠檬酸或正磷酸浸蚀, 矿物质和胶原基质都会被溶解。